Fécamp le 7 Juillet 1897

Renvoi à M. le Président Riche

Prix Gobley

Monsieur le Directeur

J'ai eu l'honneur de vous adresser trois mémoires à présenter pour le « Prix Gobley » et vous ai annoncé l'envoi d'un quatrième travail pour les derniers jours de Juin.

Le dernier numéro des Annales de l'Institut Pasteur qui devait être publié le 25 Juin, vient seulement de paraître ; j'en extrais le mémoire ci-joint que je vous prie de faire joindre à ceux que vous avez reçus.

Veuillez, monsieur le directeur, excuser le retard involontaire que j'ai mis à cet envoi, et recevoir l'expression de mes sentiments respectueux.

Haudin [?]

à Monsieur Planchon — directeur de l'École de Pharmacie à Paris

Prix Gobley

Fécamp le 1? Juin 1897

Monsieur le Directeur
de l'École de Pharmacie
à Paris

En 1893, l'École de Pharmacie de Paris a bien voulu m'attribuer sur la fondation Gobley, une somme de 500f pour une étude sur la Constitution du lait.

Depuis cette époque, poursuivant mes recherches, j'ai publié les mémoires suivants

1894 - Août = Sur l'acide citrique et le Phosphate de chaux en dissolution dans le lait.

1894 - Déc = Sur le Phosphate de chaux en dissolution dans le lait

1895 - Juillet = Sur la migration du Phosphate de chaux dans les plantes.

1897 - Juin = Sur la richesse du lait en éléments minéraux et en phosphates terreux.

C'est l'ensemble de ces travaux que j'ai l'honneur de présenter cette année au Concours du Prix Gobley.

Veuillez agréer, Monsieur

le Directeur, l'assurance de mes sentiments respectueux et dévoués

Gaudin

N. B. Par le même courrier, je vous adresse les trois premiers mémoires précités - je ferai parvenir le dernier au Secrétariat de l'École avant la fin de Juin



SUR L'ACIDE CITRIQUE ET LE PHOSPHATE DE CHAUX
EN DISSOLUTION DANS LE LAIT

Par M. L. VAUDIN

La nature des sels du lait, leur état physique, le mode de groupement des éléments acides et basiques que l'analyse immédiate permet d'y reconnaître, ont été étudiés sans grand succès, avant que M. Duclaux nous ait fait connaître sa méthode d'analyse et le résultat de ses recherches sur les phosphates du lait [1].

Dans le dernier travail, ce savant, après avoir établi par des dosages précis les quantités des divers phosphates trouvés, émet l'opinion suivante : « ... Le lait contient. dans sa partie soluble, des nombres à peu près égaux de molécules de phosphate tribasique de chaux, de phosphate bibasique de soude et de citrate de soude. Telle est au moins l'interprétation la plus légitime des nombres qui précèdent. »

J'essayerai dans ce qui suit de démontrer expérimentalement l'exactitude de cette hypothèse.

Tout d'abord j'indiquerai la marche que j'ai suivie pour prouver dans le lait l'existence de l'acide citrique qui a été signalée [2] il y a quelques années. Cette nouvelle preuve ne sera pas inutile, car les méthodes employées précédemment laissaient place au doute. L'extraction du citrate de chaux se faisait toujours à la suite d'une ébullition prolongée en liqueur calcaire acide; dans ces conditions, n'était-il pas à craindre qu'une partie de la lactose soit transformée en un produit acide analogue ou même identique à l'acide citrique [3] ?

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 2.
2. Soxhlet, *Landw. Versuchst*, 1888, p. 101. — Henckel, *id.*, 1889, p. 143. — Scheiber, 1889, p. 153.
3. La saccharone, dont la formule chimique et les propriétés physiques et organoleptiques sont très voisines de celles de l'acide citrique, s'obtient par oxydation de la saccharine, préparée avec le sucre interverti ou le sucre de lait, et la chaux.

Dernièrement, M. Wehmer (*Bull. soc. chim.*, 1893, t. IX, p. 728) nous a appris que le glucose se transformait en acide citrique sous l'influence de certains champignons.

I. La recherche de cet acide dans le lait de vache a été effectuée de la façon suivante :

20 litres de lait frais écrémé à la machine centrifuge sont coagulés par la présure. Le sérum obtenu est traité par 4 à 5 grammes d'acide acétique, clarifié avec du blanc de Meudon en faisant bouillir quelques instants, et filtré. On traite par de l'acétate de plomb le liquide obtenu ; il se forme un précipité qui est recueilli sur un filtre, lavé, délayé ensuite dans l'eau distillée et soumis à un courant prolongé d'hydrogène sulfuré. Le sulfure de plomb est séparé par filtration, et le liquide clair, après concentration dans le vide à une basse température, est traité par un excès d'éther à 65°. On laisse en contact plusieurs jours en agitant fréquemment; on décante ensuite la couche éthérée et on distille. Le résidu aqueux est placé dans le dessiccateur. On obtient ainsi des cristaux légèrement colorés qu'on essore et qu'on purifie par de nouvelles cristallisations.

Ces cristaux appartiennent au système orthorhombique ; ils ont la même composition élémentaire que l'acide citrique, et la solution est sans action sur la lumière polarisée [1]. Le point de fusion et l'acidité ont été déterminés. L'acide trouvé fond à 147°, et 100 grammes équivalent à 75,02 d'acide sulfurique SO^4H^2; l'acide citrique anhydre fond à 150°, et 100 grammes correspondent à 76gr,56 de SO^4H^2 (les légères différences observées sont dues à ce que le produit n'était pas complètement sec au moment des expériences).

Les réactions des sels de l'acide trouvé sont celles des citrates. L'acide citrique existe donc bien dans le lait de vache.

II. Quand on filtre au tube poreux du lait frais, à une température voisine de 0°, de manière qu'il ne subisse pas la fermentation lactique, et qu'ensuite on chauffe le produit filtré, il se sépare du phosphate tribasique de chaux. Le liquide, agité après refroidissement, redissout le sel qui s'est déposé.

J'ai fait cette expérience pour la première fois, dans le cours des recherches que j'avais entreprises pour déterminer les causes de l'acidité du lait [2]. L'interprétation de ce phénomène qui, à cette époque, m'avait semblé la plus rationnelle, était la

1. Je dois remercier M. Béhal, professeur agrégé à l'École de pharmacie, du concours obligeant qu'il m'a prêté pour arriver à la détermination de ces cristaux.
2. *Bulletin Soc. chim.*, 1892, t. VII, p. 489.

suivante : « La chaleur, en modifiant la matière protéique en dissolution dans le lait filtré, pour l'amener à une forme plus concrète et moins acide, a rendu impossible la solubilité totale du sel calcaire, et une certaine quantité s'est déposée. »

Cette manière de voir doit être modifiée : l'acide citrique contribue à maintenir en dissolution le phosphate de chaux, et l'expérience suivante prouve, ainsi que l'avait supposé M. Duclaux, que l'acide citrique est bien contenu dans le lait à l'état de citrate alcalin.

Si l'on traite du phosphate de chaux tribasique, obtenu à froid à l'état gélatineux, par le citrate neutre de soude, on obtient une solution qui abandonne à l'ébullition une grande partie du sel qu'elle contient. Le phosphate ainsi précipité se redissout difficilement à froid et d'une manière incomplète. Si la solution est faite en ajoutant partie équivalente de phosphate disodique, le précipité se redissout beaucoup mieux après refroidissement.

Partant de ces données, j'ai préparé, au moyen du citrate de soude, une solution contenant par litre 1 gramme de phosphate tricalcique et 2gr,30 de phosphate disodique cristallisé pur. Pour obtenir une solution parfaitement limpide, il est nécessaire d'employer une proportion de citrate supérieure à celle correspondant à l'acide citrique trouvé dans le lait ; mais ce fait n'a rien de surprenant, car nous ne pouvons reproduire fidèlement dans le laboratoire les réactions qui s'accomplissent dans l'organisme; il est aussi à remarquer que la facilité avec laquelle les phosphates gélatineux se dissolvent dans les acides étendus ou le citrate alcalin est variable d'une expérience à l'autre; enfin, on ne peut non plus affirmer d'une manière absolue, étant données nos connaissances si incertaines touchant les matières protéiques, qu'elles ne jouent aucun rôle dans la solubilité des sels terreux que le lait tient en dissolution.

Quoi qu'il en soit, la solution obtenue a été soumise à l'action de la chaleur, elle s'est comportée comme le lait filtré, sauf qu'il a fallu atteindre une température plus élevée pour déterminer la précipitation du phosphate de chaux.

En résumé, il résulte de ce qui précède que l'acide citrique à l'état de sel alcalin contenu dans le lait contribue, pour la plus grande partie, sinon entièrement, à maintenir en dissolution le phosphate de chaux du sérum lacté, et que les citrates et phos

phates alcalins et le phosphate de chaux dissous existent dans le lait dans des proportions relatives bien définies.

III. L'acide citrique existe dans le lait des animaux dans des proportions variables ; dans le lait de vache, son poids est compris entre 1 gramme et $1^{gr},50$ par litre; dans le lait de jument, il est de 60 à 80 centigrammes. Or, on sait que dans ce dernier, comme du reste dans tous les laits des animaux à croissance lente, la proportion des cendres et des phosphates est peu élevée ; il y a donc une corrélation très évidente entre la teneur en éléments phosphatés et la richesse du lait en acide citrique.

Comment expliquer la présence de cet acide dans le lait? Quelques chimistes ont pensé qu'il provenait des aliments absorbés; cette supposition ne me paraît pas acceptable : l'acide citrique introduit dans l'économie doit être détruit pendant la digestion ; il paraît plus vraisemblable d'admettre que cette formation s'effectue aux dépens de la lactose dans la glande mammaire, dont la *fonction citrogénique*, variable avec les espèces, assure la solubilité partielle du phosphate de chaux contenu dans le lait.

Sceaux. — Imp. Charaire et Cie.


ECOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS
BIBLIOTHÈQUE



SUR LE PHOSPHATE DE CHAUX
EN DISSOLUTION DANS LE LAIT

Par M. L. VAUDIN

I

Le phosphate de chaux existe dans le lait partiellement à l'état dissous. On admettait généralement, jusque dans ces derniers temps, que ce sel est maintenu dans cet état, grâce aux matières protéiques du sérum lacté; mais la découverte de l'acide citrique dans le lait, les idées que M. Duclaux a émises sur le rôle de cet élément, les recherches que j'ai faites comparativement sur le lait filtré à une température voisine de 0° et sur des mélanges salins composés de phosphate de chaux, de phosphates et de citrates alcalins, m'ont amené à prouver expérimentalement le rôle que jouent les citrates comme dissolvants du phosphate de chaux du lait[1].

Un fait cependant restait à élucider : quelle que soit la température à laquelle le phosphate de chaux gélatineux est préparé, il faut employer, pour arriver à le dissoudre, une quantité de citrate bien supérieure à celle existant normalement dans le lait. Cette circonstance est-elle due à ce que nous ne reproduisons pas exactement dans le laboratoire ce qui se passe dans l'organisme, ou bien, d'autres éléments du lait contribuent-ils aussi à rendre solubles les phosphates terreux?

En cherchant à résoudre cette question, je me suis souvenu que les solutions sucrées dissolvent facilement la chaux, et que la présence des acides organiques fixes, des sucres, peut empêcher ou au moins retarder la précipitation par les alcalis de certains sels. La considération de ces faits m'a conduit à rechercher, dans l'expérience suivante, le rôle de la lactose associée aux citrates alcalins dans la solubilisation du phosphate de chaux.

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 502.

II

Le phosphate de chaux qui nous a servi a été obtenu par précipitation, à une température peu élevée, d'une solution d'os calcinés dans l'acide chlorhydrique, au moyen d'ammoniaque ou de lessive de soude étendue. En opérant en liqueur convenablement diluée, il se dépose une masse gélatineuse qu'on lave par décantation à plusieurs reprises, et qu'après un repos assez prolongé pour lui permettre de prendre de la cohésion, on recueille sur une toile.

Ainsi préparé, le phosphate de chaux renferme 12 à 15 fois son poids d'eau.

La teneur en chaux n'est pas fixe : elle varie légèrement d'une expérience à l'autre; quand on verse la lessive alcaline dans la solution du phosphate, cette proportion est généralement inférieure à 54,2 %, qui correspond au phosphate de chaux tribasique $(PO^4)^2 Ca^3$: en opérant inversement, la richesse en chaux est plus élevée. Les dosages effectués sur 4 précipités différents m'ont donné les résultats suivants : 53,80 ; 54,00 et 55,40 ; 55,90 0/0.

On mélange équivalents égaux de phosphate de chaux, de citrate de soude et de phosphate disodique, on ajoute au liquide trouble obtenu de la lactose pulvérisée et on évapore au bain-marie, jusqu'à ce que la masse soit devenue épaisse : on la dessèche ensuite à l'étuve à air chaud.

Si l'on délaye dans l'eau distillée le mélange des sels et de lactose, et qu'on élève légèrement la température, le liquide s'éclaircit après quelques instants, en ne laissant qu'un résidu à peine appréciable. Pour arriver à ce résultat en employant une dose égale de phosphate de chaux, avec le citrate alcalin seul, il en aurait fallu quatre ou cinq fois plus; le rôle de la lactose est donc parfaitement mis en évidence.

Le liquide obtenu n'est pas une solution comparable à celle qu'on obtient en traitant le phosphate de chaux par un acide, il est légèrement opalescent, mais il ne dépose que des traces de sel calcaire après un repos prolongé. Voici, du reste, les caractères de la solution obtenue. Si elle est assez concentrée et parfaitement neutre au tournesol, elle se trouble quand on la chauffe

vers 70° — 80°; par le refroidissement le précipité se redissout en grande partie. Si le mélange de sels et de lactose donne avec l'eau un liquide possédant une réaction faiblement alcaline ou acide, la solution se fait d'une manière incomplète; filtrée, elle se trouble à une température moins élevée que si elle était neutre, et quand la liqueur est refroidie, le dépôt ne disparaît pas entièrement par l'agitation; mais si l'acidité est trop élevée, la précipitation n'a plus lieu.

Si des doses très faibles d'acide ou d'alcali modifient la façon dont la solution se comporte vis-à-vis de la chaleur, les sels alcalins déterminent aussi des changements dans la stabilité des éléments dissous. Le sel marin, ajouté jusqu'à saturation à froid, provoque la précipitation du phosphate de chaux après plusieurs heures de contact ; le précipité se forme seulement au bout d'un jour ou deux avec le sulfate de soude ; avec le chlorure de potassium, le liquide reste louche et ne donne lieu à aucun dépôt même après plusieurs jours. Ces solutions saturées de sels abandonnent facilement le phosphate de chaux quand on les chauffe vers 40° — 50°. Les alcalis donnent naissance à un volumineux précipité qui se dépose très lentement.

Filtrée au tube poreux, la solution ne passe pas entièrement: une partie du sel calcaire est retenue, et cette proportion varie d'une opération à l'autre avec la réaction du liquide. Dans une première expérience, une solution contenant $3^{gr},05$ de phosphate de chaux par litre, et ayant une acidité égale à 20 centigrammes, évaluée en acide phosphorique anhydre en présence de la phtaléine du phénol, a laissé filtrer $0^{gr},50$ de sel calcique ; le rapport de la portion filtrée à la quantité totale est de 0,164. Avec une seconde solution contenant par litre $1^{gr},25$ et ayant une acidité de 28 centigrammes, le phosphate passé à l'intérieur du tube poreux pesait $0^{gr},15$; le rapport est ici de 0,12. Il semble donc que la facilité avec laquelle les liquides considérés traversent une paroi poreuse est d'autant plus grande qu'ils sont moins acides ; il en est vraisemblablement de même pour le passage à travers les membranes animales.

En résumé, le phosphate de chaux, solubilisé par les citrates alcalins en présence de la lactose, se comporte vis-à-vis de la chaleur, du filtre de terre poreuse, des sels alcalins, comme les

matières albuminoïdes. Dans l'étude du lait, les divers traitements qui amènent la précipitation de la caséine déterminent aussi l'entraînement du phosphate de chaux, et cette coexistence constante a beaucoup aidé à accréditer cette idée que les matières protéiques contribuaient à dissoudre les phosphates terreux contenus dans ce liquide.

Il nous faut, en présence des faits ci-dessus, rejeter maintenant cette hypothèse et retenir que le phosphate de chaux du lait est maintenu en solution par les citrates alcalins et la lactose.

III

Les solutions qu'on obtient en traitant les phosphates bibasique ou tribasique de chaux par un acide, contiennent finalement du phosphate monocalcique et le sel de chaux de l'acide employé. Ces liquides chauffés précipitent facilement, s'ils sont peu acides et si la concentration est suffisante: le précipité formé est toujours, quelle que soit la basicité du sel employé, un hydrate de phosphate bibasique de chaux[1]. La séparation de ce sel est accompagnée d'une diminution d'acidité de la liqueur surnageante, en prenant comme indicateur la phtaléine du phénol.

Examinons ce qui arrive avec les solutions obtenues, comme il a été indiqué, avec du citrate de soude, du phosphate de chaux et de la lactose.

A. Une solution contenant par litre $2^{gr},45$ de phosphate tribasique de chaux et ayant une acidité égale à $0^{gr},35$ est conservée dans un endroit frais pendant 10 à 15 jours; au bout de ce temps, elle abandonne un précipité gélatineux. On le sépare de la liqueur surnageante, on le lave par décantation un grand nombre de fois et on le recueille sur un filtre.

Le précipité séché et calciné a la composition suivante rapportée à 100 parties :

Chaux	57, 9
Acide phosphorique	42, 1

L'acidité du liquide surnageant n'est plus la même : elle s'est accrue et est égale à 0,52; il ne renferme plus qu'une faible quantité de phosphate de chaux.

1. Duclaux, *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 93.

Si l'on porte à l'ébullition la solution initiale et qu'on filtre, la liqueur parfaitement limpide a une acidité égale à 0,47.

B. La solution renferme par litre 3gr,05 de phosphate de chaux, son acidité est égale à 0,20. Le précipité formé contient :

Chaux	57, 4
Acide phosphorique	42, 6

Le liquide surnageant a une acidité égale 0,38; et le poids de phosphate de chaux qui reste dissous est de 0gr,175 par litre.

C. Le poids de phosphate de chaux dissous dans un litre de solution est de 1gr,25 et l'acidité est égale à 0,28 par litre.

Le dépôt contient :

Chaux	57, 8
Acide phosphorique	42, 2

J'ai choisi, pour en faire l'analyse, les dépôts qui se produisent au sein des solutions après un temps suffisant : ils sont plus faciles à recueillir et à laver que ceux obtenus à chaud.

Ces précipités, séchés à 120°, charbonnent quand on les chauffe au rouge; l'un d'eux qui pesait 0gr,164, a perdu, pour devenir parfaitement blanc, 12 milligrammes, soit environ 7,3 0/0 de son poids; le résidu de la calcination, traité par l'eau distillée, bleuit le papier du tournesol. Un autre précipité, dissous dans l'acide chlorhydrique et versé dans la liqueur de Fehling bouillante, ne la réduit pas. Traité par le permanganate de potasse en solution alcaline, il donne la coloration verte caractéristique de l'acide citrique.

La séparation du phosphate de chaux se fait donc avec entraînement d'une petite quantité de citrate, c'est ce qui explique la présence d'un excès de chaux dans le produit de l'incinération et sa réaction alcaline. L'essai à la liqueur de Fehling indique que des lavages suffisamment réitérés dépouillent tout à fait le précipité gélatineux du sucre de lait qui l'imprègne ; avec les précipités obtenus à chaud et lavés sur le filtre, cette disparition est difficile à obtenir et le plus souvent incomplète.

Il n'est pas sans intérêt de rapprocher cette constatation des remarques faites par M. Duclaux sur la ténacité avec laquelle le gâteau de caséine coagulée par la présure retient le sucre de

lait[1]; c'est évidemment le phosphate de chaux contenu dans le caillé qui, dans ce phénomène, joue le rôle principal; et la preuve en est faite par l'expérience citée par le même auteur, que dans la coagulation par un acide, qui agit en même temps sur le phosphate de chaux, la lactose se concentre dans le sérum, contrairement à ce qui a lieu avec la présure.

Au point de vue physiologique, ce qui résulte de ce paragraphe me semble très important à noter, et peut se résumer ainsi : toutes les influences sur les solutions considérées, qui peuvent modifier ou détruire l'équilibre moléculaire des sels dissous, tendent à précipiter du phosphate tribasique de chaux avec excès de base à l'état de citrate; et cette séparation est accompagnée d'une augmentation d'acidité dans la liqueur surnageante. C'est ce que j'ai constaté aussi pour le lait filtré dans une étude antérieure[2].

IV

Nous avons, dans nos expériences, étant donné que notre but était de rechercher dans quelles conditions se trouve dissous le phosphate de chaux du sérum lacté, employé le sucre de lait et les citrates alcalins. Il était présumable que d'autres sucres, et vraisemblablement aussi d'autres sels alcalins à acides organiques fixes, peuvent jouer un rôle analogue; c'est ce que plusieurs observations nous ont permis d'établir.

Dans une opération faite avec le sucre de canne, j'ai obtenu une solution qui se comporte comme celle qui a été étudiée plus haut. On a traité la liqueur de Fehling bouillante par cette solution, elle ne s'est pas réduite; il n'y a donc pas eu inversion du sucre de canne pendant la préparation, ce qui était utile à constater. Un autre essai a été fait avec la glucose pure retirée du miel; j'ai obtenu, moins facilement cependant, une solution qui s'est comportée comme les précédentes. Il eût été très intéressant de connaître, d'une façon précise, si les sucres de formule $C^6 H^{12} O^6$ ne possèdent pas également, au point de vue qui nous intéresse, les propriétés des sucres moins hydratés. Cette question est difficile à résoudre, car d'une expérience à

1. Duclaux, *Le Lait*, p. 202.
2. *Bulletin Soc. chimique*, 1892.

l'autre, les rapports des éléments acides et basiques peuvent subir de très légères modifications qui changent l'état physique du phosphate de chaux; en outre, comme les divers sucres ne se comportent pas de même vis-à-vis des acides et des alcalis, je n'ai pu tirer de conclusions fermes des essais que j'avais entrepris.

Les sels alcalins de plusieurs acides organiques fixes, notamment les tartrates, les malates, se comportent en présence des sucres comme les citrates, mais leur pouvoir dissolvant est beaucoup moindre que celui de ces derniers.

Ces expériences nous amènent à penser que la dissolution du phosphate de chaux par les citrates et la lactose, dans un liquide organique tel que le lait, n'est pas un fait isolé. Des recherches, que j'ai commencées il y a plusieurs mois, montrent que des phénomènes analogues se produisent constamment dans la nature ; j'espère les publier prochainement.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et Cie.

3 Prix Gobley 1897 (3)C





SUR LA MIGRATION DU PHOSPHATE DE CHAUX DANS LES PLANTES

Par M. L. VAUDIN

I

Lorsque l'on analyse, à différentes époques de la végétation, les organes des plantes, on voit que les éléments minéraux contenus dans la tige et les parties foliacées sont, pour la plus grande partie, transportés au moment de la formation de la graine vers cette dernière; réciproquement, pendant la germination, les matières minérales quittent la semence pour se diriger vers la plantule.

La migration des principes minéraux et organiques dans les plantes a été l'objet, il y a déjà près de trente ans, de la part de différents chimistes, et notamment d'Isidore Pierre, d'études approfondies. Les travaux de ce dernier (*Recherches expérimentales sur le développement du Blé*, 1866) ont établi que, pendant 15 à 20 jours avant la moisson, l'épi emprunte aux différentes parties de la plante l'accroissement de poids qu'il éprouve.

S'il est facile de s'expliquer le transport des corps solubles tels que les sucres, qui, ultérieurement, se transformeront en amidon dans le grain, il n'en est pas de même si l'on considère des sels tels que le phosphate tribasique de chaux, les phosphates de magnésie, de fer... Sous quelles influences ces combinaisons insolubles peuvent-elles cheminer à travers le végétal pour se déposer ensuite dans la graine?

Ce problème présente un grand intérêt; j'ai été amené à entreprendre de le résoudre à la suite des recherches de chimie physiologique qui m'ont permis de déterminer les conditions dans lesquelles le phosphate de chaux du lait est dissous dans cette sécrétion. On sait maintenant que ce sel est maintenu en solution, grâce aux citrates alcalins et à la lactose : en outre, j'ai fait voir que les sels alcalins de certains acides organiques fixes peuvent,

en présence des sucres, jouer un rôle analogue[1]. Il m'a semblé que des faits du même ordre doivent se produire au moment du transport des matières minérales chez les végétaux; soit de la plante vers la graine au moment de la formation de cette dernière, soit aussi du grain vers la plantule au moment de la germination.

Pour démontrer l'exactitude de cette assertion, j'ai institué quelques expériences dans le but de rechercher la nature des sels organiques alcalins qui existent à côté des sucres au moment où se fait la migration des éléments minéraux: en outre, au moment où chaque opération a été effectuée, on a déterminé, toutes les fois qu'il a été possible de le faire, la composition des produits solubles dans l'eau de la plante considérée.

II

A. 1re expérience sur le blé. (*15 juin 1894.*)

L'épi est formé, le grain est sucré, mais ne contient pas encore d'amidon.

3 kilos d'épis (renfermant 72 0/0 d'humidité) sont coupés en petits fragments, pilés au mortier et délayés dans de l'eau distillée. Après quelques heures de contact, on recommence l'opération, et on la renouvelle plusieurs fois, jusqu'à ce qu'on ait obtenu 15 kilogrammes de liquide, soit un poids cinq fois plus fort que celui du blé mis en expérience. On ajoute au liquide un peu de kaolin et on filtre.

Le liquide recueilli est légèrement acide : son acidité, déterminée avec la phénol-phtaléine comme témoin, dans les conditions que j'ai indiquées pour le lait[2], est égale à 2gr,10, évaluée en acide phosphorique anhydre par kilog. de produit; il abandonne à 100° un poids d'extrait correspondant à 51gr,60 par kilog. de blé vert. Cet extrait se décompose ainsi qu'il suit :

	Par kilog. de plante verte.	Par kilog. de plante sèche.
Sucre réducteur.	12.82	45.78
— cristallisable.	17.40	62.14
Cendres (à réaction alcaline).	8.20	29.28
Matières albuminoïdes et éléments non dosés	13.18	47.07
Total. . . .	51.60	184.27
Acidité (en PhO^5) rapportée à 1 kg de produit sec. . . .		7gr50

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 856.
2. *Bulletin Soc. chimique*, 1892.

Ces déterminations effectuées, il a été procédé à la recherche des acides organiques dans le reste du liquide de la façon suivante. Le liquide est clarifié à chaud en présence d'une petite quantité d'acide acétique et de kaolin, puis filtré; la liqueur obtenue est traitée par l'acétate de plomb en excès, et le précipité obtenu est isolé et lavé par décantation à plusieurs reprises; on le soumet ensuite à un courant prolongé d'hydrogène sulfuré. On filtre pour séparer le sulfure de plomb, et le liquide recueilli est évaporé dans le vide à consistance sirupeuse, puis traité à plusieurs reprises par un excès d'éther à 65°. Les liqueurs éthérées réunies sont évaporées, elles abandonnent un liquide épais, acide, qui cristallise difficilement. Après quelque temps, on voit apparaître des boules composées de prismes radiés, des aiguilles brillantes, isolées ou groupées en rosettes, agissant sur la lumière polarisée.

L'examen de ces cristaux nous a permis d'établir qu'ils sont constitués par de *l'acide malique*.

B. 2e EXPÉRIENCE SUR LE BLÉ. (*10 juillet 1894.*)

Les épis ont acquis leur grosseur normale, le grain est mou et laisse échapper, quand on l'écrase, un liquide épais lactescent, très-riche en amidon et légèrement sucré. On répète l'expérience faite le 15 juin en opérant dans les mêmes conditions.

Le produit acide isolé par l'éther donne assez rapidement des cristaux; lorsque leur volume n'augmente plus, on les sépare mécaniquement du liquide sirupeux très acide qui les entoure, on les essore, et on les fait recristalliser dans l'eau distillée.

Ces cristaux ne s'altèrent pas à l'air; chauffés, ils émettent des vapeurs vers 150°; ils deviennent mous à une température plus élevée, et fondent à 178°. Si on élève encore la température, ils se subliment en aiguilles et rhombes caractéristiques. Ces propriétés appartiennent à l'acide succinique; la détermination de l'acidité, l'analyse et les caractères des sels font voir en effet que c'est bien cet acide qui a été retiré du blé.

100 grammes de l'acide trouvé équivalent à $81^{gr},92$ d'acide sulfurique SO^4H^2 : 100 grammes d'acide succinique pur équivalent à $83^{gr},05$ d'acide sulfurique.

$0^{gr},127$ de l'acide sont transformés en sel argentique, le poids

trouvé est de $0^{gr},389$: le calcul pour un poids égal d'acide succinique indique $0^{gr},403$.

L'acide trouvé donne avec le perchlorure de fer neutre un précipité gélatineux rouge brique.

Dans le produit sirupeux d'où l'on a retiré *l'acide succinique*, nous avons isolé en outre de *l'acide malique*.

C. — 3e EXPÉRIENCE SUR LE BLÉ. (*Août 94 et Mars 95.*)

Du blé fraîchement récolté et battu aussitôt est soumis aux essais suivants :

100 grammes de grain (contenant environ 30 0/0 d'eau) non séché sont pilés au mortier, traités par l'eau distillée à diverses reprises pour obtenir finalement 1 litre de liquide. L'acidité de ce dernier, calculée pour un kilog. de blé, est égale à 2 grammes d'acide phosphorique; il abandonne à l'évaporation un poids d'extrait égal à $39^{gr},80$ qui se décompose ainsi qu'il suit :

	Par kilog. de plante verte.	Par kilog. de plante sèche.
Sucre total....................	11 gr. 24	16 gr. 06
Cendres (à réaction alcaline)...	6 gr. 50	9 gr. 28
Matières protéiques et éléments non dosés..................	22 gr. 06	31 gr. 23
Total.....	39 gr. 80	56 gr. 57
Acidité (en PhO^5) rapportée à 1 kilog. de produit sec.		2 gr. 86

Au mois de mars 1895, on traite dans un appareil à lixiviation 7 à 8 kilos de ce blé concassé par un courant d'eau glacée, acidulée à 1/1000 par l'acide acétique. Le liquide obtenu est traité par l'acétate de plomb, et soumis aux mêmes traitements que ceux indiqués dans les opérations précédentes.

Les liqueurs éthérées abandonnent un acide qui cristallise facilement : les cristaux sont constitués par de *l'acide succinique*; les eaux mères d'où ils se sont séparés sont fort peu abondantes, nous ne pensons pas qu'elles renferment de l'acide malique, du reste, il ne nous a pas été possible d'en isoler. Ajoutons aussi que la quantité d'acide succinique retirée est très faible.

III

Quelles sont les conclusions à tirer des résultats énoncés ci-dessus? Pour les déterminer, nous allons passer en revue les changements survenus pendant le processus de la végéta-

tion, dans la nature et les proportions des éléments trouvés.

Commençons par la graine; nous avons vu qu'elle renferme au moment de la récolte, pour 1,000 grammes de matière séchée à 100°, 56gr,57 de produits solubles dans l'eau, dont 16gr,06 de sucre, et 9gr,28 de cendres. On y trouve des traces d'acide succinique $C^4H^6O^4$.

Pendant la germination, des phénomènes d'oxydation et d'hydratation s'accomplissent, l'amidon se transforme en sucre, et l'acide succinique disparaît pour faire place à l'acide malique $C^4H^6O^5$; ce sont les sels de cet acide qui semblent seuls exister pendant la vie de la plante précédant la formation du grain. A cette dernière époque, les principes existant en solution ont beaucoup augmenté, les sucres notamment; c'est maintenant que les phénomènes de transport sont les plus apparents, ainsi que l'indique la teneur élevée en éléments minéraux dissous dans les liquides cellulaires; leur poids est environ trois fois plus fort qu'il n'était dans la graine.

Lorsque la maturation est commencée, et que le contenu du grain devenu lactescent indique la transformation du sucre en amidon, l'acide succinique apparaît, vraisemblablement formé par réduction de l'acide malique, car on voit celui-ci disparaître en même temps que les matières sucrées; finalement, lorsque la graine est mûre et qu'on n'y trouve plus qu'une faible quantité de sucre, le seul acide organique qu'on peut y décelér avec certitude est l'acide succinique.

Or, nous avons vu dans une précédente étude (*loc. cit.*) que les sucres en présence des malates peuvent maintenir en dissolution le phosphate de chaux; j'ai constaté que les succinates ne possédaient pas la même propriété. Les conditions dans lesquelles s'effectuent, dans le blé, la migration du phosphate de chaux et le dépôt de ce sel dans la graine, peuvent maintenant s'expliquer très clairement. Les sucres, élaborés par les organes foliacés, en se dirigeant vers la graine, ainsi que les phosphates et malates alcalins, entraînent avec eux les phosphates insolubles; au fur et à mesure de leur transformation en amidon, ils déposent du sel tribasique de chaux; en même temps, les malates sont détruits en presque totalité, une partie seulement subit une destruction incomplète et persiste dans la graine à l'état de succinates.

Ces faits, que j'ai pu mettre en évidence dans le blé, se reproduisent également, sinon dans toute leur intégrité, du moins d'une façon analogue dans les plantes qui contiennent de l'amidon et des sucres pendant leur végétation; les acides peuvent différer, mais le phénomène reste le même. Ce sont les malates qui sont le plus répandus dans le règne végétal; on a signalé leur existence dans les organes d'un grand nombre de plantes; divers acides, qui semblent être identiques avec l'acide malique, ont été extraits de plusieurs végétaux. Outre les expériences que j'ai faites sur le blé, j'ai recherché l'acide malique dans d'autres Graminées. Dans deux opérations faites sur le maïs, un mois environ après la semaille, et au moment de la formation de l'épi, j'ai pu isoler cet acide; je l'ai également retiré de l'orge, et dans cette dernière graine sèche j'ai trouvé, comme dans le blé, de l'acide succinique. Dans d'autres familles, notamment dans les Légumineuses, on trouve des citrates; l'acide citrique existe aussi dans les betteraves : on peut en effet le séparer facilement du dépôt calcaire qui se produit dans les appareils d'évaporation des sucreries. E. O. von Lippmann a isolé aussi de l'acide carballylique [1] de betteraves qui avaient été maintenues quelque temps dans un endroit chaud. Notons que le rapport de cet acide, $C^6H^8O^6$, à l'acide citrique, $C^6H^8O^7$, est le même que celui de l'acide succinique $C^4H^6O^4$ à l'acide malique, $C^4H^6O^5$.

Après les tableaux montrant la composition des éléments qui entrent en solution dans l'eau, j'ai indiqué l'acidité rapportée à la plante verte et à la plante sèche. On remarque qu'avant la formation du grain, c'est-à-dire avant que les phénomènes de transport soient bien tangibles, les chiffres représentant cette acidité sont plus élevés; si l'on était tenté de lui faire jouer un rôle dans la migration des phosphates terreux, cette constatation devrait à elle seule faire rejeter cette idée; mais des considérations d'un autre ordre tendent aussi à l'écarter.

Nous savons que les solutions du phosphate de chaux dans les acides minéraux ou organiques tendent à précipiter du phosphate bibasique; or ce n'est pas ce composé que l'on rencontre dans les végétaux, c'est le sel à 3 équivalents de chaux, et ce dernier ne peut se déposer, ainsi que je l'ai montré ailleurs (*loc.*

1. *Deutche chemische Gesellschaft*, t. XI, p. 707.

cit.) que dans un milieu salin neutre ou fort peu acide. Il est, du reste, important de rappeler ici que c'est dans les années pluvieuses, où les liquides organiques végétaux sont le plus acides, que la maturité se fait mal et que le grain est plus petit et moins riche en éléments minéraux.

De plus, j'ai fait voir le rôle joué par les matières protéiques quand on mesure l'acidité des liquides organiques animaux; ici, elles se comportent de la même façon, les volumes d'alcali employés aux différentes époques de la végétation où l'on a effectué ces mesures sont partiellement absorbés par les substances albuminoïdes, et, s'ils varient d'une façon notable, c'est aussi bien aux changements survenus dans la constitution de ces dernières, qu'aux modifications des sels à acides organiques, qu'il convient d'attribuer ces variations.

En résumé, dans mes études antérieures, et dans ce qui précède, je crois avoir déterminé dans quelles conditions le phosphate de chaux (et avec lui les phosphates de fer et de magnésie) sont transportés dans le blé, soit du grain vers la jeune poussé, soit des diverses parties de la plante vers l'épi; ce sont les sucres avec les malates alcalins qui sont les agents de cette migration.

Des phénomènes semblables se produisent, sans aucun doute, chez toutes les plantes dont les graines renferment de l'amidon; les sucres, les sels à acides organiques fixes : malates, citrates, etc., qui concourent à ce transport peuvent varier, mais le fait reste le même et semble avoir un caractère général en physiologie végétale.

Sceaux. — Imp. Charaire et Cie.

SUR LA RICHESSE DU LAIT

EN ÉLÉMENTS MINÉRAUX ET EN PHOSPHATES TERREUX

Par M. L. Vaudin.

D'après le *Dictionnaire de Wurtz* (t. II, p. 194), la quantité moyenne des cendres laissées par la calcination est pour le lait de vache de 3 grammes à 9 grammes par litre, la moyenne générale étant de 4 grammes. Ces variations considérables sont indiquées d'après les analyses de Schwartz, Filhol et Jolly, Haidlen, Boussingault, Simon, etc... Il semblerait donc, d'après ces données, que les matières minérales du lait sont éminemment variables dans leurs proportions.

D'autres chimistes, Marchand à Fécamp, Wanklyn à Londres, Méhu à Paris, ont au contraire constaté (Méhu, *Chimie médicale*, 2e édit., p. 169) que les cendres du lait de vache varient dans des limites peu étendues; d'après eux, la proportion par litre est de 7 à 8 grammes. C'est aussi à ce résultat qu'est arrivé M. Duclaux avec du lait provenant de vaches du Cantal; il a trouvé les chiffres suivants : 7gr,50, 7gr,80, 7gr,60, 8 gr., 7gr,50. (*Le Lait*, p. 186 et suivantes.) Cette constance dans le poids des cendres des laits authentiques qu'il a examinés, le fait insister ailleurs (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1892, p. 15) sur la nécessité de doser exactement les matières minérales dans la recherche des falsifications du lait.

Les divergences entre les auteurs que nous venons de citer doivent tenir à plusieurs causes de mode opératoire suivi, race, ou même régime alimentaire différent, état maladif de l'animal, etc... Pour apprécier la valeur de ces influences, j'ai effectué le dosage des cendres et des phosphates terreux dans un certain nombre d'échantillons de lait authentique de diverses provenances; j'ai résumé ces analyses dans le tableau ci-dessous.

ANALYSES DE LAITS DE VACHE DE PROVENANCES DIVERSES

(Dosage des éléments minéraux et des phosphates terreux.)

Nos	PROVENANCE DU LAIT Nourriture des animaux.	ÉLÉMENTS minéraux par litre.	PHOSPHATES terreux par litre.	ÉPOQUE DES ANALYSES OBSERVATIONS
1	Env. de Fécamp. Vach. de rac. norm. — Orge cuite, son, tourteau.	7.80	3.80	Février. (12 à 15 litres par jour.)
2	Id. — Arachides, paille, betteraves	7.70	3.75	Mars. Même vache.
3	Id. — Seigle vert	7.50	3.55	Avril. Id.
4	Id. — Nourriture verte	7.40	3.40	Juin. Id.
5	Id. — Trêfle incarnat vert	8.10	4.08	Mai.
6	Id. — Nourritnre verte	7.05	3.40	Juin. Même vache.
7	Id. — Id.	7.85	3.70	Id. Id.
8	Chaumont (Haute-Marne). Pâturage	7.25	3.30	Septembre. 12 à 14 lit. par jour.
9	Lens (Pas-de-Calais). Betteraves et paille	7.60	3.70	Janvier. 18 à 20 litres par jour.
10	Gênes. (Vacherie suisse)	7.66	3.37	Janvier.
11	Milan	7.66	3.40	Février.
12	Hambourg	8. »	3.50	Janvier.
13	Alexandrie (Egypte)	7.83	4.10	Mars. Lait riche en matières protéiques. Extrait par litre : 142^{gr},28.
14	New-York	7.71	3.41	Septembre.
15	Mérida (Yucatan)	7.74	3.75	Octobre. 6 à 8 litres par jour.
16	Haïti	7.41	3.46	Janvier.
17	Lima (Pérou)	7.65	3.35	Mars.
	LAITS ANORMAUX			
18	Fécamp. Nourriture verte	8.60	» »	Novembre. Vache pleine, dernières traites.
19	Id. Tourteaux, betteraves, paille	8.50	» »	Vaches intoxiquées par des tourteaux envahis par des moisissures (Aspergillus).

Les matières minérales ont été obtenues en évaporant 10 c. c. de lait dans une capsule de platine et en incinérant le résidu

sur la flamme d'un bec de Bunsen. Il est essentiel, si l'on ne veut pas s'exposer à volatiliser les chlorures, que la température ne soit pas portée trop haut; pour cela, on règle la flamme de façon qu'elle ne touche pas la capsule, et on déplace celle-ci de temps en temps quand le charbon a disparu dans les parties les plus chauffées. Ainsi obtenues, les cendres sont blanches, légères, non adhérentes à la capsule; on les pèse et on les dissout ensuite facilement dans un acide très dilué. Cette solution est placée dans un verre conique et précipitée par l'ammoniaque; au bout de 24 heures, quand les phosphates se sont rassemblés, on filtre le liquide surnageant, et on lave le précipité à plusieurs reprises avec de l'eau ammoniacale avant de le recueillir.

On voit que, quelle que soit son origine, le lait de vache normal renferme une proportion d'éléments minéraux habituellement comprise entre et 7 et 8 grammes par litre; la race de l'animal, sa production lactée journalière, la nature du sol et la température du pays dans lequel il vit, n'ont à cet égard qu'une influence médiocre.

Le tableau ci-dessus nous fournit en outre d'autres renseignements. Les premières analyses semblent indiquer qu'une vache nourrie à l'étable avec une ration alimentaire où les graines dominent donne un lait plus riche en cendres et en phosphates que lorsque cette même vache reçoit une nourriture verte. Les analyses du lait d'un autre animal nourri au pâturage (5-6-7) nous montrent que l'individualité joue un rôle au moins aussi important que l'alimentation, et, en effet, deux chiffres trouvés sont égaux ou supérieurs à ceux des analyses 1 et 2.

D'autres éléments du lait subissent-ils des variations parallèles à celles des matières minérales? Cette question est intéressante à examiner en ce qui concerne les matières protéiques; on sait, en effet, que le lait d'autres ruminants, celui de la brebis, par exemple, contient une proportion plus élevée de caséine, et il en est de même des cendres. La comparaison des chiffres suivants empruntés à l'ouvrage de M. Duclaux (*Le Lait*, p. 186 et suivantes) :

	I	II	III	IV	V
Matières protéiques par litre =	32.7	38 »	39 »	39.7	41.5
— minérales — =	7 »	7.8	8 »	7.6	7.5

ne nous donne à cet égard que des indications incertaines.

Quelques-uns des échantillons de lait que j'ai examinés ont fait l'objet d'une analyse complète que je rapporte ici :

	LAITS NORMAUX		LAITS ANORMAUX	
	N° 5	N° 9	N° 18	N° 19
Beurre	35.20	31.50	32.80	5.80
Sucre de lait	50.85	50.10	28.44	46.20
Matières protéiques	36.30	41.60	52.16	44. »
Cendres	8.10	7.60	8.60	8.50
Phosphates terreux	4.08	3.70	» »	» »
Extrait par litre	130.45	130.80	122. »	104.50

Il n'y a donc pas une proportionnalité constante entre la richesse d'un lait normal en matières protéiques et sa teneur en cendres; on constate bien, quand le lait devient anormal pour des causes diverses, que la caséine a augmenté en même temps que les éléments minéraux, mais on ne saurait tirer de là des conclusions s'appliquant au lait ordinaire. Il est extrêmement probable que là encore l'individualité joue un rôle prépondérant, ce qui nous explique les différences observées.

En résumé :

1° Le lait de vache normal, quel que soit le pays de production, la race de l'animal, son alimentation, sa sécrétion journalière, etc..., renferme une quantité de cendres peu variable comprise habituellement entre 7 et 8 grammes par litre; dont 3^{gr},3 à 4 grammes de phosphates terreux (phosphates de chaux, de manganèse et de fer précipitables par l'ammoniaque) ;

2° Les causes des faibles variations observées sont, par ordre d'importance, l'individualité et l'alimentation;

3° Certaines influences normales ou pathologiques, en modifiant la nature du lait, déterminent une augmentation des cendres et des matières protéiques. Cette augmentation n'est pas parallèle d'une façon constante dans les laits normaux.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie E. Charaire.